Untersuchungen zur Mutationsauslösung durch Alphateilchen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Ilse Beleites

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Februar 1939
Tag der Promotion: 30. Jan. 1939

1 9 3 9

WALTER DE GRUYTER & CO. / BERLIN

N 34

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Referenten: N. W. Timoféeff-Ressovsky
Professor Dr. Fr. Seidel

D 11

Sonderdruck aus
Fundamenta Radiologica, Band V, Heft 3—4 (1939)

Inhalt

Seite

1. Einleitung 142
2. Hauptteil 143
3. Schlußbemerkungen 151
Zusammenfassung 151
Résumé 151
Summary 152
Literatur 152

1. Einleitung

Seit Muller (1927, 1928) die ersten positiven Ergebnisse über Auslösung von Mutationen bei Drosophila durch Röntgenstrahlen beschrieben hat, spielt die Strahlengenetik bei der Untersuchung des Mutationsvorganges und damit des Gens eine große Rolle.

Auf die Muller'schen Versuche folgten bald eingehendere Untersuchungen verschiedener Autoren, die zu einer näheren Analyse der mutationsauslösenden Wirkung der kurzwelligen Strahlen führten.

Es erwies sich, daß die Strahlenwirkung eine direkte ist, denn es konnten weder Nachwirkungen beobachtet werden (bestrahlte, aber mutationsfrei gebliebene Chromosome zeigten auch in späteren Generationen keine Erhöhung gegenüber der spontanen Mutationsrate), noch hatte bestrahltes Plasma auf nichtbestrahlte Kerne einen Einfluß (Timoféeff-Ressovsky 1930, Timoféeff-Ressovsky, Zimmer u. Delbrück 1935).

Mit steigender Dosis erhöhte sich die Mutationsrate, und zwar konnte eine direkte, lineare Proportionalität zwischen Dosis und Mutationsrate nachgewiesen werden, d. h. daß beispielsweise eine um das Dreifache erhöhte Dosis auch eine um das Dreifache erhöhte Mutationsrate bewirkte (Keller u. Lüers 1937, Oliver 1932, Stadler 1930, Timoféeff-Ressovsky u. Delbrück 1936, Zimmer 1934).

Wie weiter gezeigt wurde, war es dabei ganz bedeutungslos, ob die betreffende Dosis konzentriert (innerhalb von wenigen Minuten), verdünnt (innerhalb mehrerer Stunden) oder geteilt (mit Unterbrechung von Tagen) verabfolgt wurde. Die Gesamtdosis allein ist für die Mutationsauslösung entscheidend (Hanson und Heys 1932, Patterson 1931, Timoféeff-Ressovsky 1934, Timoféeff-Ressovsky u. Zimmer 1935).

Weiter ergab ein Vergleich der Versuchsergebnisse bei allen kurzwelligen Strahlen (weiche Röntgen- bis Gammastrahlen), daß die Mutationsrate unabhängig von der Wellenlänge ist. D. h. gleiche Dosen (in r gemessen) verschiedener Wellenlänge haben gleiche mutationsauslösende Wirkung (Pickhan 1935, Timoféeff-Ressovsky u. Zimmer 1935).

Auf Grund treffertheoretischer Überlegungen kann man hieraus folgendes schließen: Eine Mutation wird durch einen Treffer bewirkt, und als ein Treffer ist die Anregung eines Atoms bzw. die Bildung eines Ionenpaares anzusehen, da die strahleninduzierte Mutationsrate lediglich der Zahl der gebildeten Ionenpaare proportional ist.

Falls die Schlußfolgerung zutrifft, daß die Bildung eines Ionenpaares zur Mutationsauslösung ausreicht, müßte man bei sehr dicht ionisierenden Strahlen, wie es

z. B. Rückstoßprotonen schneller Neutronen und Alphateilchen sind, zwar auch eine Dosisproportionalität jedoch einen geringeren Effekt bei gleicher Dosis erwarten (bei großer Ionisationsdichte würden mehrere Anregungen in ein und denselben Treffbereich fallen und die „überzähligen" wirkungslos bleiben). Die Versuchsergebnisse von Timoféeff-Ressovsky u. Zimmer (1938) mit Rückstoßprotonen schneller Neutronen bestätigten diese Erwartung: Die Proportionalitätskurve, die sich aus Neutronenversuchen mit verschiedenen Dosen ergibt, verläuft flacher als diejenige, die im Röntgenstrahlenversuch bei entsprechenden Dosen gewonnen wurde. Es war daher zu erwarten, daß bei noch dichter ionisierenden Strahlen dieser Effekt noch stärker hervortreten wird, und es erschien interessant, in dieser Hinsicht die Wirkung von Alphastrahlen zu untersuchen.

Alphastrahlen sind Korpuskularstrahlen und stellen positiv geladene Heliumkerne dar. Beim radioaktiven Zerfall werden die Alphateilchen mit erheblicher Energie ausgeschleudert und erzeugen längs ihrer Bahn eine große Zahl von Ionisationen. Ihre Reichweite in biologischen Objekten beträgt nur bis zu 100 μ. Diese geringe Reichweite bildet eine große Schwierigkeit bei den Versuchen, da eine mutationsauslösende Wirkung erst eintreten kann, wenn die Keimzellen selbst getroffen werden.

1935 hat F. D. Ward Versuche mit Alphateilchen zum Zwecke der Mutationsauslösung angesetzt. Ward versuchte die geringe Eindringtiefe der α-Teilchen dadurch zu überwinden, daß sie die gleiche Methode anwandte wie Geigy (1931) und später Altenburg (1934, 1936) bei Untersuchungen über die mutationsauslösende Wirkung von ultravioletten Strahlen. Sie bestrahlte befruchtete Eier in frühen Embryonalstadien. Als Alphastrahlenquelle benutzte sie Radium F (Polonium). Bei der Wardschen Versuchsanordnung konnte die Mutationsrate zwar erhöht werden, aber die Ergebnisse waren noch nicht quantitativ auswertbar. Auch ist eine mittels dieser Methode der Eibestrahlung erzeugte Mutationsrate qualitativ nicht mit einer auf Grund der ClB-Kreuzungsmethode ermittelten vergleichbar. Es ist zweckmäßig, nur solche Mutationsraten zu vergleichen, die mittels der gleichen Kreuzungsmethode bestimmt sind. Beispielsweise könnte bei Eibestrahlung in frühen Embryonalstadien die germinale Selektion eine Rolle spielen.

Unabhängig von F. D. Ward stellten Zimmer und Timoféeff-Ressovsky (1936) ebenfalls Untersuchungen über die Beeinflussung der Mutationsrate durch Alphabestrahlung an. Ihre Versuche hatten ähnliche Ergebnisse bei Anwendung einer anderen Methode. Damit die Alphateilchen an die Keimzellen gelangen konnten, wurde die Strahlenquelle „in die Fliegen hineinverlegt". Auf diese Weise gelang es, die Mutationsrate um 0,86% (auf das etwa 5-fache der spontanen) zu erhöhen. In der vorliegenden Arbeit wurde die gleiche Methode angewandt, und dabei wurde versucht, über die qualitativen Versuche von Zimmer und Timoféeff-Ressovsky hinausgehend quantitativ auswertbares Material zu erhalten. Wie bei den eben erwähnten Versuchen wurden Drosophila melanogaster-Männchen der Einatmung von Radiumemanation ausgesetzt.

2. Hauptteil

a) Material und Methodik

Radiumemanation (Radon) ist ein Edelgas und das erste Zerfallsprodukt des Radiums. Es zerfällt unter gleichzeitiger Aussendung von Alphastrahlung mit einer Halbwertszeit von 3,82 Tagen zu Radium A (Fig. 6). Werden Fliegen der Einatmung

dieses Gases ausgesetzt, so verteilt sich das Radon durch das Tracheensystem innerhalb des Körpers der Tiere, und die Alphateilchen können die Geschlechtszellen treffen.

Die Emanation lieferte ein nach Wolf und Riehl (1931) hergestellter Radonator. Bei diesem Präparat wird sehr fein verteiltes Radium verwandt, das in ein Eisenhydroxydgel eingelagert ist. Das Emanierungsvermögen beträgt etwa 95%. Das Radiumpräparat befindet sich in einem Metallzylinder (ϕ = 12 cm), der unten luftdicht verschlossen und von einer porösen Platte oben bedeckt ist. Der für die Versuche verwandte Radonator liefert in 24 Std. 50000 Millistat Radon (1 Millistat = $3{,}64 \cdot 10^{-10}$ Curie)[1]).

Durch Vorversuche wurde zunächst festgestellt, daß man in einem 100 ccm fassenden Gefäß über 100 Drosophila melanogaster ♂♂ ohne weiteres 80 Std. unter Luftabschluß und ohne Futter halten konnte. Die Sterblichkeit betrug bei 100 Tieren nach 80-stündigem Einschluß etwa 15%. Dabei spielte die Futterentziehung offensichtlich kaum eine Rolle.

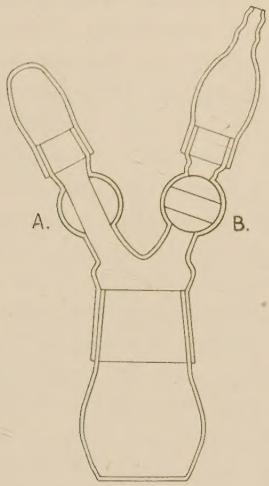

Fig. 1. Das Versuchsgefäß im Querschnitt. Die Emanation strömt durch Hahn *A*, über dem sich der Radonator befindet, ein. Hahn *B* dient zum Evakuieren nach jedem Versuch, er bleibt während der Versuchsdauer geschlossen.

Die zum Versuch bestimmten ♂♂ stammten aus einem viele Generationen hindurch ingezüchteten Stamm: „Berlin wild". Sieben Tage vor jedem Versuch wurden die Massenkulturen ausgeschüttet und etwa 24 Std. vor Beginn eines Versuches wurden aus diesen Kulturen 2 mal je 50 ♂♂ in ein frisches Futterglas gesetzt. Die zur Behandlung bestimmten Tiere waren somit zwischen 1 und 7 Tage alt. Die Anordnung der Hauptversuche war folgende: 100 ♂♂ wurden in das auf Fig. 1 im Querschnitt dargestellte Glasgefäß, dessen Rauminhalt 100 ccm bei geschlossenen Hähnen betrug, gesetzt. Auf den Boden des Glasgefäßes wurde eine angefeuchtete Papiertüte gelegt, die als Sammelplatz für die Fliegen diente und außerdem für die notwendige Feuchtigkeit sorgte. Das Schließen des Hahnes *B* geschah erst, nachdem die Fliegen aus der Äthernarkose erwacht waren. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß bei Nichtbeachtung dieser Vorsicht die Tiere während der ganzen Versuchsdauer narkotisiert blieben. Wahrscheinlich genügte der geringe im Apparat noch bleibende Äther, der durch den luftdichten Verschluß nicht entweichen konnte, zu einer Dauernarkose. Da der Stoffwechsel während der Narkose herabgesetzt ist, gelangt bei narkotisierten Fliegen offenbar weniger Emanation in ihr Inneres, was eine unkontrollierbare Beeinflussung der Versuchsergebnisse zur Folge haben könnte. Nachdem die Tiere erwacht waren, wurde Hahn *B* geschlossen und Hahn *A* geöffnet.

Zur Untersuchung über die Wirkung der Alphastrahlen wurde die Rate geschlechtsgebundener Mutationen bei Drosophila melanogaster nach Radonbehandlung mit verschiedenen Dosen bestimmt. Die Kreuzung geschah nach der von Muller 1928 zuerst beschriebenen ClB-Methode. Behandelte Männchen werden mit unbefruchteten Weibchen gekreuzt, die in einem X-Chromosom den dominanten Faktor Bar und eine Inversion, die in homozygotem Zustand letal wirkt, enthalten. Durch die Inversion wird der Austausch fast völlig verhindert.

[1]) Für die Bereitstellung des Radonators bin ich Herrn Dr. P. Wolf (Auer-Gesellschaft) zu großem Dank verpflichtet.

In F_1 treten phänotypisch sowohl normale als auch ClB-Weibchen auf. Die ♂♂ sind alle normal, ihr Zahlenverhältnis zu den ♀♀ ist 1:2, da diejenigen, die das ClB-Chromosom von der Mutter bekommen haben, nicht lebensfähig sind. Aus dieser F_1 werden die ClB-Weibchen mit ihren normalen Brüdern angesetzt. Das Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein der Männchen in der F_2 zeigt dann, ob im X-Chromosom der behandelten P-Männchen ein Letalfaktor aufgetreten ist (Fig, 2).

Es wurden 3 Versuchsserien mit gestaffelten Dosen angesetzt. Da die Sterblichkeit der mit Emanation behandelten Tiere sehr hoch war (sie betrug bei der höchsten Dosis bis 70%), waren mehrere Parallelversuche erforderlich, um statistisch auswertbares Material zu bekommen. Im ganzen wurden 13 Versuche ausgeführt, die sich folgendermaßen auf die einzelnen Behandlungszeiten verteilten:

1. Dosis = 20 Stunden in 3 Parallelversuchen,
2. „ = 40 „ „ 4 „
3. „ = 80 „ „ 6 „

Nach jedem Einzelversuch wurde das Glasgefäß gründlich gereinigt, um jede Spur Emanation des vorhergehenden Versuches zu beseitigen. Zunächst wurden die Schliffe mit Xylol gewaschen, dann jeder Teil in Alkohol getaucht, in Salzsäure nachgewaschen und zuletzt in Leitungswasser gespült. Nachdem alles gut ausgetrocknet, die Schliffe neu gefettet und wieder zusammengesetzt waren, wurde 30 Min. lang mit der Wasserstrahlpumpe Luft durchgezogen und zum Schluß der Apparat evakuiert. Vor jedem Versuch wurde der Radonator 24 Std. ausgelüftet. Danach kann angenommen werden, daß zu Beginn jedes Versuches gleiche Bedingungen herrschten.

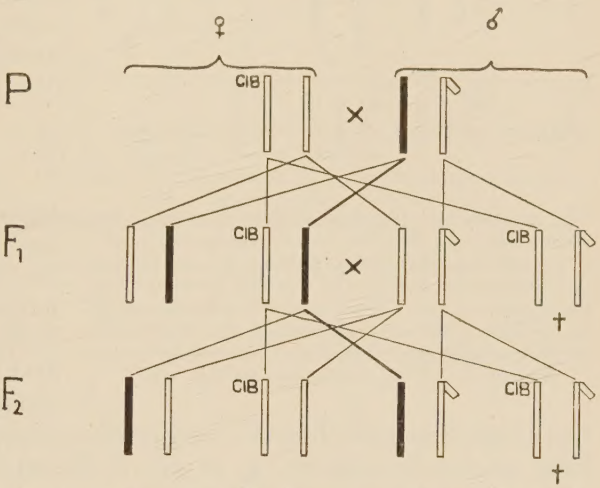

Fig. 2. Schema der ClB-Kreuzungsmethode. Das dickausgezogene Chromosom wird in der *P*-Generation bestrahlt. Das Kreuz unter den Tieren bedeutet, daß sie nicht zur Entwicklung gelangen.

Bei Aufzucht der Fliegen wurde je ein behandeltes ♂ mit einem ClB-Weibchen angesetzt und im Thermostaten bei 25° C gelassen. Am 6. Tage wurden die Elterntiere ausgeschüttet, und die Kulturen blieben bis zum Ansetzen der F_2 in Zimmertemperatur. Die Weiterzucht geschah wieder in Einzelzuchten in gleicher Weise wie für die P-Generation beschrieben.

Gershenson (1935) hatte gezeigt, daß primäres „nondisjunction" im ClB-Stamm etwa 0,53% Ausnahmetiere ergibt. Um festzustellen, ob es berechtigt war, Kulturen in denen 1 ♂ auf etwa 30 ♀♀ kam, als letal zu zählen, wurde in einem Versuch mit einem markierten X-Chromosom gearbeitet. Diese Männchen mußten sich dann als primäre nondisjunction-Ausnahmetiere herauszustellen. Andernfalls dürften Kulturen mit 1 ♂ auf etwa 30 ♀♀ nur als subletal gerechnet werden. Zur Markierung wurden die Faktoren white und singed genommen; die mit Emanation behandelten Männchen waren, wie in allen anderen Versuchen, normal. Eine schematische Darstellung der

Kreuzung ist auf Fig. 3 gegeben. Aus der F_1 wurden nur Tiere aus solchen Kulturen angesetzt, in denen alle Männchen erwartungsgemäß *w sn* waren.

Unter 12488 ♂♂ der F_2 waren 12416 normal und 72 Ausnahmen. Das besagt, daß 0,58% Ausnahmetiere aufgetreten waren. Das stimmt mit dem Gershensonschen Ergebnis gut überein, wenn man in Betracht zieht, daß im vorliegenden Material 3 Letalkulturen vorhanden waren, die zusammen 5 Ausnahmemännchen aber keine normalen enthielten. Es war also durchaus berechtigt, Kulturen aus Versuchen ohne markiertes X-Chromosom, die in der F_2 1—3 Männchen enthielten, als letal zu zählen. Darüber hinaus besteht die von Argelander und Rose (1938) angedeutete Gefahr, daß bei Nichtmarkierung des zweiten X-Chromosoms im ClB-Stamm sekundäre nondisjunction-Ausnahmetiere auftreten. In diesem Falle würde ein aufgetretener Letalfaktor überhaupt nicht in Erscheinung treten, denn die sekundären nondisjunction-Ausnahmemännchen bilden etwa ein Drittel aller Männchen.

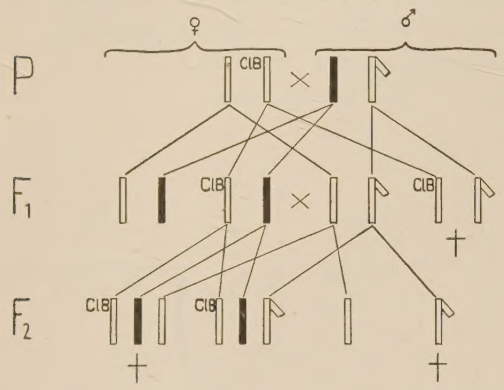

Fig. 3. Schema für das Zustandekommen der Ausnahmetiere. Es wird angenommen, daß in der F_1 primäres nondisjunction auftritt, d. h. die beiden X-Chromosome weichen in der Reduktionsteilung nicht auseinander. Das markierte Chromosom ist im Schema glatt weiß gezeichnet, das bestrahlte ist dick ausgezogen. Ein Kreuz unter den Tieren bedeutet, daß sie nicht lebensfähig sind.

b) Versuchsergebnisse

In dem ganzen untersuchten Material traten 5 sichtbare Mutationen auf: Im X-Chromosom mutierten die normalen Allele von white, scute, vermilion, forked und im 2. Chromosom das von plexus zu ihrem rezessiven Allel Außerdem wurde in der F_2 der Dosis 2 ein ♂ gefunden, das phänotypisch der von Lüers für Drosophila funebris beschriebenen Shaker-Mutation glich. Leider war es nicht möglich festzustellen, ob es sich in diesem Fall um eine Mutation oder Modifikation handelte, da das Tier starb, ehe es weiter gezüchtet werden konnte. Vitalitätsmutationen d. h. durch die Bestrahlung hervorgerufene Änderung der Vitalität wurde bei den Ergebnissen nicht berücksichtigt. In den 5819 Kulturen der F_2 traten insgesamt 120 Letalfaktoren auf. Die Mutationsrate steigt mit Erhöhung der Expositionszeit an. Ein Kontrollversuch von 750 F_2-Kulturen ergab nur einen Letalfaktor (Tab. 1, Fig. 4).

Tabelle 1

Verteilung der durch die Radonbehandlung ausgelösten geschlechtsgebundenen Mutationen auf die drei Dosen

Dosis in Zeit	Zahl der Kulturen	Zahl der geschlechtsgeb. Mutationen	Mutationsrate in %
20 Std.	2125	21	0,98 ± 0,21
40 „	1879	33	1,76 ± 0,29
80 „	1815	70	3,85 ± 0,44

c) Diskussion der Ergebnisse

Um die Beziehung zwischen Einatmung und ausgelöster Mutationsrate einer näheren Betrachtung unterziehen zu können, ist es erforderlich, die dabei ablaufenden radioaktiven Zerfallsvorgänge sich noch einmal vor Augen zu führen.

Es ist erwähnt worden, daß bei einem Zerfall des gasförmigen Radons sich ein aktiver Niederschlag bildet, der aus einem wiederum sehr rasch zerfallenden Element Ra *A* besteht. Die sich aus Radium *A* bildenden Folgeprodukte: Ra *B*, Ra *C*, Ra *D* sind ebenfalls feste Stoffe, unterscheiden sich jedoch von den vorhererwähnten als auch untereinander durch ihre Halbwertszeit. Im Vergleich zur Emanation sind Ra *A*, Ra *B*, Ra *C* sehr kurzlebig (Halbwertszeit Sekunden und Minuten). Radium *D* jedoch hat eine Halbwertszeit von 15 Jahren. Daraus ergibt sich, daß die kurzlebigen Zwischenprodukte bei der Betrachtung vernachlässigt werden können und man zur Berechnung der Dosis nach der Zahl der nach bestimmter Zeit vorhandenen Atome Ra *D* fragen muß (Fig. 5). Um hieraus die Zahl der ausgesandten α-Teilchen und damit die Dosis in Ionenpaaren zu erhalten, braucht man nur mit dem Faktor 3 zu multiplizieren, da die Bildung von Ra *D* aus Radon unter Aussendung von 3 α-Teilchen erfolgt (Fig. 6).

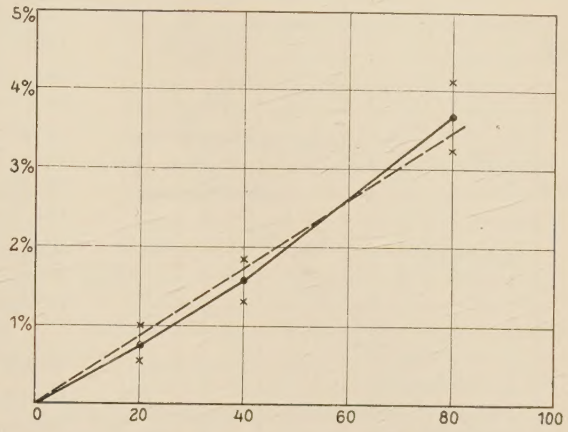

Fig. 4. Graphische Darstellung der Mutationserhöhung bei zunehmender Radoneinatmung.
Ordinate: Mutationsrate in % nach Abzug der spontanen Mutationsrate von 0,19%.
Abszisse: Zeit der Radonbehandlung in Stunden.

Da bei der benutzten Versuchsanordnung im Anfang keine Emanation vorhanden war, erfolgt die Bildung von Radium *D* aus Radium der Hahnschen Masse nach der Formel:

$$N_t = \mathrm{Ra}\,\left(ae^{-\lambda_{\mathrm{Ra}}\,t} + be^{-\lambda_{\mathrm{Rn}}\,t} + ce^{-\lambda_{\mathrm{Ra\,D}}\,t}\right)$$

deren numerische Auswertung für den Anfangsteil der Kurve angenähert einen Anstieg mit dem Quadrat der Zeit ergibt.

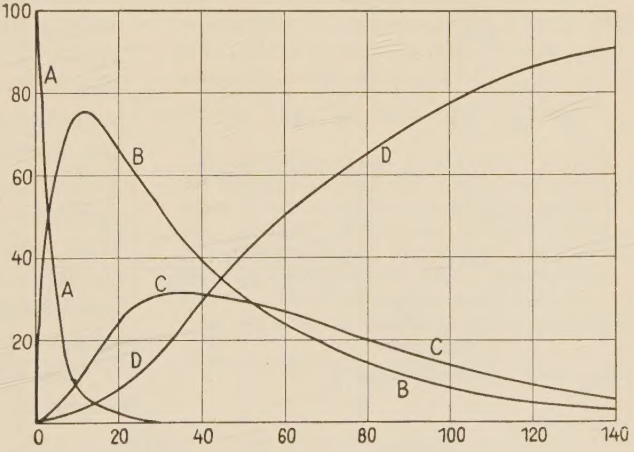

Fig. 5. Zerfall des aktiven Niederschlags des Radiums unter der Annahme, daß zur Zeit 0 nur Radium *A* vorhanden ist.
Ordinate: Menge.
Abszisse: Zeit in Minuten.
Schon nach 2 Std. ist fast nur noch Radium *D* vorhanden.

Elementar gelangt man zu dem gleichen Ergebnis, wenn man die mittleren Dosen der drei Versuchserien pro Zeiteinheit errechnet.

Während 20 Std. wirkt eine mittlere Dosis von 21500 Millistat je Stunde.
„ 40 „ „ „ „ „ „ 41500 „ „ „

Während 80 Std. wirkt eine mittlere Dosis von 75400 Millistat je Stunde

Dabei ist ein Millistat = $3{,}64 \cdot 10^{-10}$ Curie; 1 Curie, das sich mit seinen Zerfallsprodukten im Gleichgewicht befindet, sendet pro Sekunde $3 \cdot 3{,}72 \cdot 10^{10}$ α-Teilchen; und ein α-Teilchen erzeugt je cm seiner Bahn $4 \cdot 10^4$ Ionenpaare. Die durchschnittliche Weglänge eines α-Teilchens in der Kugel beträgt 0,61 R (R = Radius). Nach Lind (1928) ist die Zahl der erzeugten Ionenpaare N der von E Curie in der Zeit t in einer Normalluft enthaltenden Kugel vom Radius R folgendermaßen zu berechnen: N = Alphateilchen je Sekunde · Zeit · E · durchschnittliche Weglänge der α-Teilchen · Ionenpaare je cm. Die Dosis in r ausgedrückt errechnet sich aus: Zahl der erzeugten Ionenpaare mal Größe des Elektrons, dividiert durch das Volumen des Gefäßes. (Tab. 2)

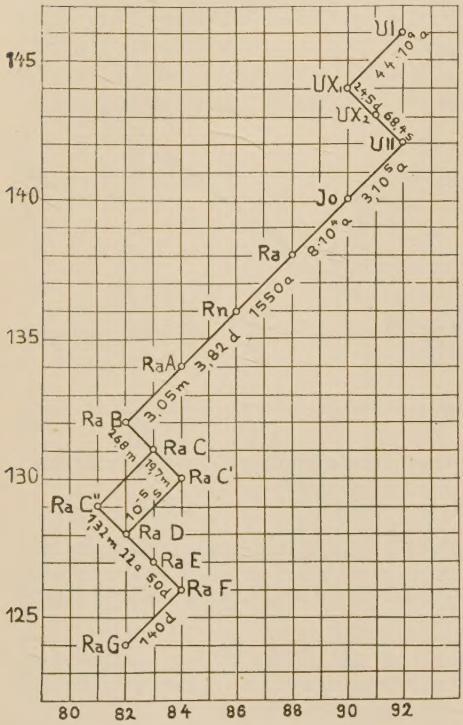

Fig. 6. Darstellung des Zerfalls der Uran-Reihe mit Angabe der Halbwertszeiten. Bei Aussendung eines α-Teilchens rückt das folgende Element gleichzeitig 2 Plätze nach links und nach unten. Bei Aussendung von β-Strahlung rückt das folgende Element 1 Platz nach rechts und nach unten.
Ordinate: Atomgewicht minus Kernladungszahl.
Abszisse: Kernladungszahl.

Schon die Mutationsrate macht es unwahrscheinlich, daß diese in r errechneten Dosen wirksam gewesen sind. Eine mutationsauslösende Wirkung dieser Strahlung kann auch darum nicht angenommen werden, weil es sich bei den errechneten Dosen um die Alphastrahlung innerhalb des Gefäßes handelt, die wegen ihrer schwachen Eindringungsfähigkeit die Gonaden garnicht erreichen konnte. Es erhebt sich also die Frage, worauf die Erhöhung der Mutationsrate zurückzuführen ist. Wie eingangs gesagt, war ja der Gedanke, der zu der Versuchsanordnung der Emanationseinatmung führte der, die Alphastrahlenquelle in die Fliegen hineinzuverlegen, und durch die im Innern der Tiere ausgesandten α-Teilchen die Mutationsauslösung zu bewirken. Wenn dieses Ziel tatsächlich erreicht wurde, mußte sich eine Aktivität der behandelten Fliegen nachweisen lassen.

Zu diesem Zweck wurden Zählrohrmessungen an Fliegen vorgenommen, die unter

Tabelle 2

Dosis in r der drei Behandlungszeiten errechnet auf Grund der gebildeten Ionenpaare im Versuchsgefäß

Dosis in Stunden	Mittlere Dosis in Millistat pro Stunde	Mittlere Dosis in Curie pro Stunde	Zahl der erzeugten Ionenpaare	Dosis in r
20	21500	$7{,}83 \cdot 10^{-6}$	$4{,}42 \cdot 10^{15}$	$2{,}11 \cdot 10^5$
40	41500	$15{,}11 \cdot 10^{-6}$	$17{,}07 \cdot 10^{15}$	$8{,}14 \cdot 10^5$
80	75400	$27{,}45 \cdot 10^{-6}$	$62{,}00 \cdot 10^{15}$	$29{,}57 \cdot 10^5$

den gleichen Bedingungen der Radoneinatmung ausgesetzt waren, wie die für die genetischen Versuche bestimmten.

Nach Entnahme aus dem Versuchsgefäß wurden die Tiere getötet und nach 10 bis 12-maligem Umschütten in ein leeres Glas (durch das Umschütten sollte die auf den Fliegen außen haftende Emanation weggespült werden) in ein Glasröhrchen eingeschmolzen.

Zum Nachweis der Aktivität der Fliegen wurde ein Geigersches Zählrohr mit angeschlossenem Verstärker benutzt (Fig. 7). Es wurde ein Messingzählrohr von 50 mm Länge und 2 mm Wandstärke hergestellt und bis auf 50 mm Hg-Druck evakuiert. Durch die 2 mm starken Messingwände sollte nur γ-Strahlung registriert werden. Vor Beginn jedes einzelnen Versuches wurde ein Bereich von etwa 50 V festgestellt, in dem die spontane Stoßzahl konstant war. Mit einer innerhalb dieses Bereiches liegenden Spannung wurde dann die folgende Messung durchgeführt. Zur Kontrolle schloß

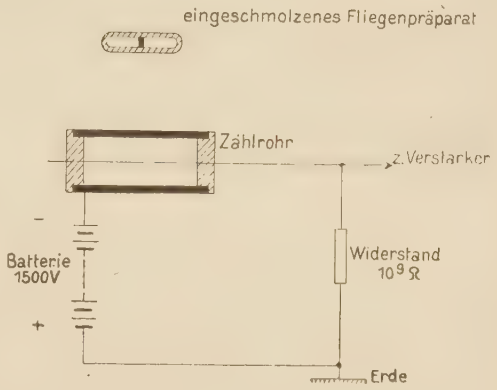

Fig. 7. Schematische Darstellung der Zählrohranordnung zum Nachweis der Aktivität der mit Radon behandelten Fliegen.

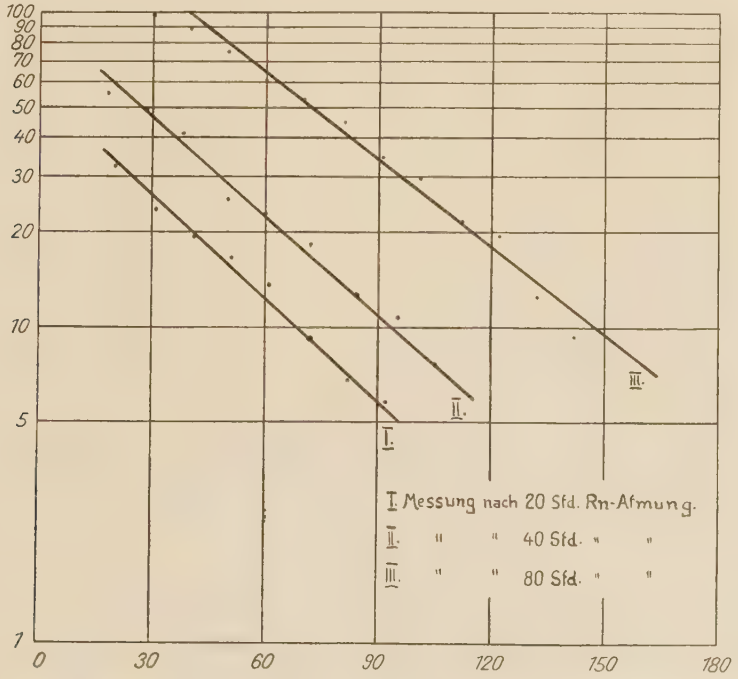

Fig. 8. Graphische Darstellung der Zählrohrmeßergebnisse an Fliegen, die 20 bzw. 40 und 80 Std. der Radoneinatmung ausgesetzt waren.
Ordinate: Stoßzahl pro Minute in logarithmischem Maßstab.
Abszisse: Zeit in Minuten nach Entnahme aus dem Versuchsgefäß.

sich an jede Zählrohrmessung eines „Fliegenpräparates" die Messung eines Standardpräparates an. Die Fliegenmessungen wurden so durchgeführt, daß abwechselnd je 5 Min. die spontanen Stöße und die Stöße der Fliegen gezählt wurden.

(Fig. 8). Die Halbwertszeit des Fliegenpräparates beträgt in allen drei Versuchen etwa 30 Min., was innerhalb der Fehlergrenze für die Halbwertszeit des aktiven Niederschlags liegt. Damit ist gezeigt, daß sich auf den Fliegenoberflächen nur Ra *A*, Ra *B* und Ra *C* niederschlägt.

Aus diesem Ergebnis kann man den Schluß ziehen, daß die Erhöhung der Mutationsrate tatsächlich auf die α-Strahlung innerhalb der Fliegen zurückzuführen ist (die β- und γ-Strahlung ist viel zu gering, um überhaupt genetisch wirksam sein zu können).

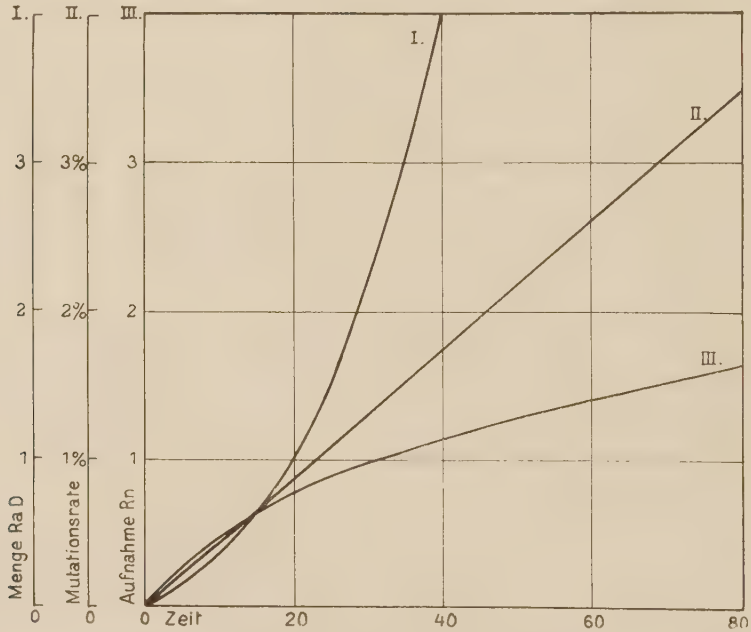

Fig. 9. Darstellung des Zustandekommens der beobachteten Mutationsrate unter der Annahme, daß eine Radonsättigung in den Fliegen eintritt.

Wenn man vorerst annimmt, daß die „innere" Dosis der Dosis im Gefäß proportional ist, fällt eine wesentliche Abweichung des Mutationsergebnisses von der beschriebenen Beziehung zwischen Mutationsrate und Einatmungszeit auf. Dennoch ist es nicht angebracht, etwa die direkte Proportionalität zwischen Dosis und Mutationsrate als in diesem Falle ungültig anzusehen, sondern die Erklärung der Unstimmigkeit muß in sekundären Einflüssen gesucht werden.

Zunächst ist es sehr schwer zu übersehen, welcher Bruchteil der α-Teilchenemission im Innern der Fliegen stattfindet. Zweifellos werden viele der Zerfallsvorgänge außerhalb der Tiere erfolgen, und der aktive Niederschlag wird sich entweder in der Luft oder auf der Außenseite der Fliegen niederschlagen, wo er wegen der geringen Eindringtiefe der α-Teilchen nicht zum biologisch gemessenen Effekt beitragen kann. Weiterhin ist keineswegs gewährleistet, daß die von den Fliegen pro Zeiteinheit ge-

atmete Luftmenge während der ganzen Versuchsdauer konstant war, sondern es ist anzunehmen, daß mit fortschreitender Einatmungszeit das Atemvolumen immer geringer wurde, war doch die Behandlung als solche nur eben noch subletal.

Schließlich ist als ausschlaggebender Grund für den Unterschied zwischen dem Ansteigen der Mutationsrate und dem Anwachsen von Ra *D* eine Radonsättigung innerhalb der Fliegen anzunehmen. Wenn die Fliegen unbeschränkt aufnahmefähig für Emanation wären, müßte das beobachtete Mutationsergebnis direkt proportional dem Radonanstieg innerhalb des Gefäßes sein. Wie die Versuche zeigen, ist dies nicht der Fall, sondern es ergibt sich eine Mutationskurve, die proportional der Einatmungszeit verläuft. Es muß also ein Faktor in Rechnung gezogen werden, der die weitere Aufnahme an Radiumemanation hemmt (Fig. 9).

3. Schlußbemerkungen

Das Ergebnis dieser Versuche kann dahin zusammengefaßt werden, daß es mit Hilfe der beschriebenen Methode (Einatmung von Radiumemanation) möglich ist, bei Drosophila melanogaster die Mutationsrate zu erhöhen. Es ist gelungen, die Mutationsrate durch Alphastrahlen von 0,19 % (spontane Mutationsrate bei einer Temperatur von 25 °C) auf 3,69 % zu steigern. Zum Nachweis der Aktivität der mit Radon behandelten Fliegen wurden Zählrohrmessungen durchgeführt, die zeigen, daß die Erhöhung der Mutationsrate auf die Wirkung von Alphateilchen zurückzuführen ist. Eine genaue Berechnung der den Geschlechtszellen applizierten Dosis ist durch diese Messungen nicht möglich gewesen, so daß keine Angaben über die relative Wirksamkeit der Alphateilchen gemacht werden können. Ein aussichtsreicherer Weg zur genauen Feststellung von Dosis und Wirkung bestünde darin, daß man Sperma direkt außerhalb der Fliegen bestrahlte und dann die F_1 durch künstliche Besamung nach der von Gottschewski (1937) entwickelten Methode gewinnen würde.

Zusammenfassung

1. Bei Drosophila melanogaster konnte die Mutationsrate im X-Chromosom nach Einatmung von Radiumemanation erhöht werden.

2. Als Ursache der Mutationserhöhung wird die durch diese Behandlung hervorgerufene Alphastrahlung innerhalb der Fliegen angenommen.

3. Die Mutationserhöhung mit fortschreitender Einatmungszeit ist verhältnismäßig geringer als die Zahl der erzeugten Ionenpaare im Versuchsgefäß. (Die Zahl der erzeugten Ionenpaare wächst etwa quadratisch mit der Zeit, während die Mutationsrate eher direkt zeitproportional verläuft.)

4. Radonsättigung innerhalb der Fliegen wird als Erklärung für die Unstimmigkeit gegeben.

Résumé

1° La fréquence des mutations chez Drosophila melanogaster a pu être élevée ensuite d'inhalation de niton.

2° Cette élevation semble être due à une irradiation interne par des rayons α.

3° La fréquence des mutations ne croît pas en proportion avec le nombre des paires des ions produit dans la bouteille.

4° La différence observée s'explique par une saturation de niton en mouches.

Summary

1) The sex linked mutation rate in Drosophila melanogaster could be increased by respiration of radon.

2) It is supposed that this increase of the mutation rate is caused by α-rays emitted within the flies.

3) The increase of the mutation rate with time is relatively smaller than the number of ion-pairs formed in the treatment vessel.

4) Saturation of radon within the flies is suggested as interpretation for the observed difference.

Literatur

Altenburg, E., Amer. Nuturalist **68**, (1934).
— Biol. Zurn. **5**, (1936).
Argelander, A. u. J. Rose, Biol. Zbl. **58**, (1938).
Geigy, R., Rev. suisse Zool. **38**, (1931).
Gershenson, S., J. Genet. **30**, (1935).
Gottschewski, G., Naturwiss. **25**, (1937).
Hahn, O., Naturwiss. **12**, (1924).
Hanson, F. B. u. F. M. Heys, Amer. Naturalist **66**, (1932).
Keller, C. u. H. Lüers, Biol. Zbl. **57**, (1937).
Lind, S. C., Chem. Catal. Comp. New York, (1928).
Lüers, H., Abstamm.lehre **72**, (1936).
Meyer, S. u. E. Schweidler, Radioaktivität, Teubner Leipzig, (1927)
Muller, H. J., Sci. **66**, (1927).
— Proc. Nat. Acad. Sci, **14**, (1928).
— Genetics (Am.), **13**, (1928).
Oliver, C. P., Abstamm.lehre **63**, (1932).
Patterson, J. T., Biol. Bull. **61**, (1931).
Pickhan, A., Strahlentherapie **52**, (1935).
Rasetti, Fr., Blackie and Son Limited London and Glasgow, (1937).
Rutherford, Chadwick Ellis, Radiations from Radioactive Substances; Cambridge, (1930)
Stadler, L. J., J. Hered. (Am.) **21**, (1930).
Timoféeff-Ressovsky, N. W., J. Hered. (Am.) **21**, (1930).
— 4. int. Radiol. Kongress 2, (1934).
— Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre; Steinkopff, Dresden, (1938).
— u. M. Delbrück, Abstamm.lehre **71**, (1936).
— u. K. G. Zimmer, Strahlentherapie **53**, (1935).
— u. — Strahlentherapie **54**, (1935).
— u. — Naturwiss. **26**, (1938),
— u. — u. M. Delbrück, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Fachgr. 6 N. F. 1 Nr. 13, (1935).
Ward, F. D. Genetics (Am.) **20**, (1935).
Wolf, P. M. u. N. Riehl, Strahlentherapie **40**, (1931).
Zimmer, K. G., Strahlentherapie **51**, (1934).
— u. N. W. Timoféeff-Ressovsky, Strahlentherapie **55**, (1936).

Für die Anregung zu dieser Arbeit sowie wohlwollendes Interesse und Förderung danke ich meinem verehrten Lehrer N. W. Timoféeff-Ressovsky herzlich. Außerdem möchte ich Herrn Dr. K. G. Zimmer und Herrn Dr. H. J. Born für ihre freundliche Unterstützung in physikalischen Fragen danken.

Lebenslauf

Am 12. April 1911 wurde ich, Ilse Beleites, in Berlin als Tochter des Landrichters Ernst Beleites und seiner Ehefrau Maria-Magdalena geb. Fuß geboren. Vom 1. April 1917 bis 1. März 1929 besuchte ich die Schule und bestand am 1. März 1929 in Berlin an der real-gymnasialen Studienanstalt des Bismarck-Lyzeums die Reifeprüfung. Im Wintersemester 1933/34 belegte ich als Gasthörerin Vorlesungen über Vererbungswissenschaft und wurde am 18. Mai 1934 als ordentliche Studierende bei der philosophischen Fakultät an der Friedrich-Wilhelms-Universität immatrikuliert, wo ich bis zum Sommersemester 1938 Vorlesungen über Zoologie, Vererbungswissenschaft und Anthropologie hörte.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig. 35/39